

# Cherif Mahamoud Sama 論文内容の要旨

主 論 文

## Immunogenicity of novel nanoparticle-coated MSP-1 C-terminus malaria DNA vaccine using different routes of administration

(和訳: 新しいナノ粒子で調整したマラリア MSP-1 の C 末端 DNA ワクチンの免疫原性  
に対する 3 種の異なる接種ルートの比較検討)

(Mahamoud Sama Cherif, Mohammed Nasir Shuaibu, Tomoaki Kurosaki,  
Gideon Kofi Helegbe, Mihoko Kikuchi, Tetsuo Yanagi, Takafumi Tsuboi,  
Hitoshi Sasaki, Kenji Hirayama)

(Vaccine 29 (2011) 9038– 9050)

[ページ数: 13 ページ]

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻  
(主任指導教員: 平山謙二 教授)

### 緒 言

マラリアワクチンが待望されて久しいが、いまだに流行地における根絶対策に資するワクチンは実現していない。すでに実用化されているウイルスや細菌に対するワクチンと比較して原虫や寄生虫に対するワクチンの開発が困難な理由は明らかではないが、複雑なライフサイクルや免疫回避機構の存在などが関与していると考えられる。マラリアワクチン開発にあたっては、ライフサイクルの特定の時期をねらったワクチン候補分子が多数報告され、そのうち有望なものとして、肝細胞期を標的としたもの (RTS, S ワクチン)、赤血球期 (RESA, MSP-3, AMA-1 など)、媒介蚊体内での有性生殖期 (Pfs25 など) を標的としたものなどが臨床研究段階に入っている。しかし、最適な標的分子を選別するだけでは十分な免疫効果は期待できず、より強力で有効なアジュバントの開発も実用化には不可欠であると考えられている。本研究では、すでに候補分子として確立している MSP-1 分子をコードする DNA を組み込んだ DNA ワクチンを新しいワクチンデリバリーシステムであるナノ粒子でコーティングし、この新たなシステムの防御効果への影響をマウスモデルで検証した。

## 対象と方法

マウスマラリアモデルとして、*Plasmodium yoelii* マラリア原虫を C57BL/6 (B6) マウスに腹腔注射して感染させる系を用いた。マウスは感染後原虫血症を起こし、感染後 1-2 週で死亡する。DNA ワクチンはバイカル社より恵与されたヒト用のプラスミドに PCR により調整した MSP-1 の C19 とよばれる C 末のワクチン配列を組み込んで作成した。陰性対象としてはブランクのプラスミドを用いた。このプラスミドをコーティングするナノ粒子はすでに佐々木らのグループが報告した静電作用による 2 層構造をとるポリエチレンジアミン (PEI) と  $\gamma$  ポリグルタミン酸 ( $\gamma$ PGA) を用いたシステムで、プラスミド DNA を核として内層に PEI、外層に  $\gamma$ PGA が取り巻き、全体の粒子の大きさは約 50-100 ナノメートルである。これを 3 週間の間隔で 3 回、皮下、静脈内あるいは腹腔内に投与し免疫した。最後の免疫後 2 週後に原虫を腹腔内投与しチャレンジ感染を行い、2 週間-4 週間観察を続けた。一部のマウスはチャレンジの前に脾臓やリンパ節、血液を採取し免疫学的な解析を行った。

## 結 果

生存曲線や原虫血症の解析により DNA ワクチンの効果は、いずれのルートでもナノ粒子でコートした MSP-1C19 ワクチンが、コートしない DNA ワクチンと比べて顕著な防御効果を示すことが明らかであった。またワクチン後の血液中の抗体価の測定においても、ナノ粒子群では高い抗体価を示した。また脾臓細胞の培養上清中のサイトカインの測定では、レクチン刺激あるいは組み換え抗原刺激により、IL-4,  $\gamma$  インターフェロン、および IL-12 が顕著に産生されることが明らかになった。接種ルートに関しては、生存率や原虫血症、抗体価を指標とすると腹腔内投与が最も免疫原性が高く次に静脈内、皮下投与の順であった。特に皮下注では抗体の産生がほとんど見られなかったが、サイトカインの反応はむしろ高かった。また生存率についても腹腔内と比較すれば低かったがそれでも 60% の生存率を示した。

## 考 察

ナノ粒子で調整した DNA ワクチンはコーティングしない DNA ワクチンと比較して飛躍的な免疫原性を示した。すでにこの粒子が樹状細胞に効率よく取り込まれ、導入された遺伝子が発現することが GFP 遺伝子を用いた研究で明らかになっているので、おそらく用いた DNA ワクチンも投与部位での樹状細胞への取り込みが促進され、免疫原性の向上に寄与したものと考えられた。抗体価がほとんど上がらない皮下注でも防御効果が顕著にみられたことから、DNA ワクチンでは細胞性免疫刺激能が防御効果に重要な役割を果たしていることが示唆された。